

IAP20 Rec'd PCT/PTO 13 DEC 2005

Utilisation de l'Alverine, seul ou en combinaison avec un antidépresseur tricyclique ou un antidépresseur inhibiteur spécifique de la recapture de la sérotonine pour le traitement de la dépression

5 La dépression est l'un des troubles psychologiques les plus fréquents. En France, le taux de dépressifs est de 14,9 % dont près d'un tiers n'est pas pris en charge médicalement. La prévalence de la dépression déclarée a été multipliée par 6 depuis 1970. Le risque de présenter une dépression majeure au cours de la vie varie, selon les études, de 10 à 25 % pour les femmes et de 5 à 12 % pour les hommes.

10

Le syndrome dépressif associe des troubles de l'humeur (sentiments de tristesse, d'abandon, d'humiliation, de dévalorisation), une inhibition psychomotrice (fatigue, impuissance devant le quotidien, troubles de la concentration), une anxiété manifeste (souvent au premier plan) avec des troubles somatiques quasi constants (oppression, spasme, troubles du sommeil, troubles de l'appétit, trouble de la sexualité).

15

La découverte des antidépresseurs à la fin des années cinquante a marqué une véritable révolution thérapeutique dans le monde de la neuropsychiatrie. Les antidépresseurs sont capables, moyennant un délai de deux à trois semaines d'améliorer l'humeur dépressive et de soulager la souffrance morale. Si l'indication première des antidépresseurs reste évidemment la dépression unipolaire endogène, il faut connaître les extensions d'indication qui concernent maintenant d'autres entités psychiatriques comme les épisodes dépressifs des psychoses bipolaires, certains états anxieux, les troubles obsessionnels compulsifs, les troubles du comportement, des troubles alimentaires mais également d'autres contextes nosographiques tels que la prise en charge thérapeutique de certaines douleurs.

20

25

Les antidépresseurs tricycliques (TCA) avec l'amitriptyline (Laroxyl®) et l'imipramine (Tofranil®) ont été les premiers découverts, suivi par les inhibiteurs de la monoamine oxydase (IMAO), irréversibles et non sélectifs comme la phenelzine (hydrazine), la pargyline (classe des acétyléniques) et l'iproniazide (Marsilid). Les effets indésirables, en particulier l'hypotension orthostatique, la sécheresse de la

30

bouche, la somnolence, la constipation, les troubles de l'accommodation mais aussi l'effet proconvulsivant et la cardiotoxicité des TCA (surtout en cas de surdosage) et les crises hypertensives des IMAO (interactions avec la tyramine alimentaire, ainsi que les nombreuses interactions médicamenteuses) ont poussé la recherche vers de nouvelles

5 molécules d'efficacité thérapeutique identique mais de meilleure acceptabilité.

La notion de spécificité est alors apparue avec les inhibiteurs spécifiques de la sérotonine (5-hydroxytryptamine ou 5HT). Les essais cliniques de phase III ont démontré pour ces nouvelles molécules une efficacité équivalente aux antidépresseurs

10 de première génération et une meilleure tolérance, notamment en cas de surdosage. Cependant, des effets indésirables subsistent avec ces molécules. Ils concernent le plus souvent l'appareil digestif, avec des nausées, des vomissements et à un moindre degré, des constipations et de l'anorexie. Des insomnies sont décrites ainsi que des céphalées, des accès hypersudatifs et des troubles sexuels (baisse de la libido, éjaculation

15 précoce). Des syndromes de sevrage ont été décrits, d'où la règle de la décroissance posologique lorsqu'on envisage d'arrêter le traitement.

Le syndrome sérotoninergique, souvent méconnu, est lié à certains surdosages ou à des interactions et justifie l'arrêt immédiat du traitement. Il peut entraîner une hospitalisation, voire exceptionnellement la mise en jeu du pronostic vital. Il associe

20 un ensemble de symptômes d'ordre digestifs (diarrhée), végétatifs (sueurs, dysrégulation thermique, hypo ou hypertension), moteurs (myoclonies, tremblements), neuropsychiques (confusion, agitation voire coma).

La découverte des 2 formes A et B de la monoamine oxydase, différenciant l'une de l'autre

25 par l'affinité de la forme A pour la NA et la 5HT et de la forme B pour la dopamine (DA), a conduit aux inhibiteurs sélectifs et réversibles de la monoamine oxydase A ou B. L'intérêt d'une inhibition sélective A ou B est de laisser persister l'une des activités A ou B, suffisante pour détruire la tyramine qui, chez les malades traités par les IMAO non sélectifs, était à l'origine de nombreux effets indésirables comme les accès

30 hypertensifs.

On distingue ainsi, le moclobemide (Moclamine®), la befloxatone et la toloxatone (Humoryl®) comme inhibiteur sélectif et réversible de la monoamine oxydase A. Il existe cependant un risque d'induction de syndromes sérotoninergiques surtout lorsque leur prescription succède à celle d'un ISRS (inhibiteur spécifique de la recapture de la
5 sérotonine).

Pour les derniers antidépresseurs arrivés sur le marché, leur effet thérapeutique résulte d'une inhibition simultanée de la recapture de la sérotonine (5HT) et de la noradrénaline (NA) et ils cumulent les effets secondaires qui en résultent. Ainsi la
10 mirtazapine (Norset®), le milnacipran (Ixel®) et la venlafaxine (Effexor®) agissent à la fois sur les voies noradrénergiques et sur les voies sérotoninergiques. Cependant, ils ne sont pas non plus dénués d'effets indésirables puisque la mirtazapine entraîne fréquemment une prise de poids importante. Le milnacipran (Ixel®) et la venlafaxine (Effexor®) quant à eux entraînent une élévation de la pression artérielle diastolique
15 ainsi qu'une nervosité et une anorexie.

Ainsi, la pharmacopée dispose de produits antidépresseurs efficaces mais non dénués d'effets secondaires. Le problème qui se pose actuellement est l'existence d'un traitement de la dépression efficace qui comporte le moins d'effets indésirables possibles et une toxicité nulle ou quasi-nulle.

20

L'un des buts de la présente invention est de proposer des produits permettant le traitement de la dépression mais dépourvus en grande partie des effets secondaires mentionnés précédemment.

25 L'Alvérine est un médicament classiquement utilisé comme antispasmodique pour le traitement des manifestations fonctionnelles abdominales notamment avec météorisme. La présente invention repose sur la mise en évidence inattendue des propriétés antidépressives de l'Alvérine.

Le mode d'action de l'Alvérine est différent de celui des antidépresseurs tricyclique et
30 de celui des inhibiteurs spécifiques ou non spécifiques de la recapture de la sérotonine, car l'Alvérine interagit marginalement avec les systèmes de recapture de la sérotonine ou de la noradrénaline.

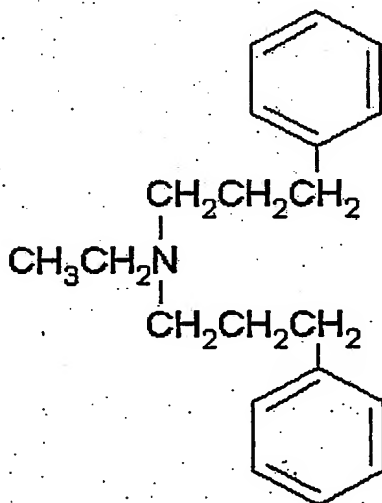
L'avantage de l'Alvérine est que ce produit, sur le marché depuis plus de 50 ans présente par rapport aux antidépresseurs classiques décrits ci-dessus une toxicité très faible et des effets secondaires qui sont très limités avec un recul de plus d'un demi siècle.

La présente invention décrit les propriétés anti-dépressives chez l'animal de l'Alvérine.

DESCRIPTION

Ainsi, la présente invention a pour objet l'utilisation de l'Alvérine ou de ses métabolites, ainsi que les esters et les sels pharmaceutiquement acceptables pour la préparation de compositions pharmaceutiques destinées à traiter la dépression.

Par Alvérine, on entend le N-Ethyl-3,3'-diphényldipropylamine

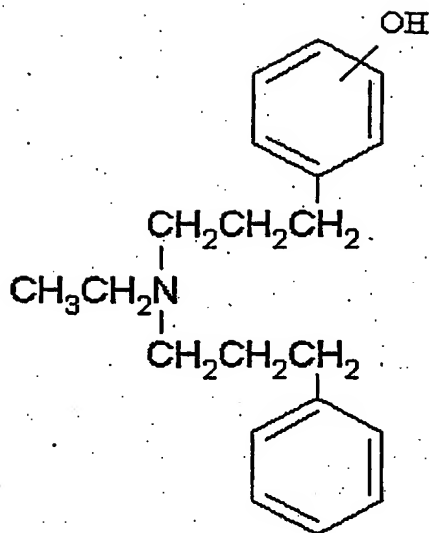


Par métabolites de l'Alvérine, on entend entre autre les dérivés mono ou poly hydroxylés sur les noyaux phényles et mono ou poly hydroxylés ou mono ou poly carboxylés sur les chaînes aliphatiques. Trois des principaux métabolites identifiés à

titre d'exemple après incubation de l'Alvérine avec des microsomes de foie humain
sont :

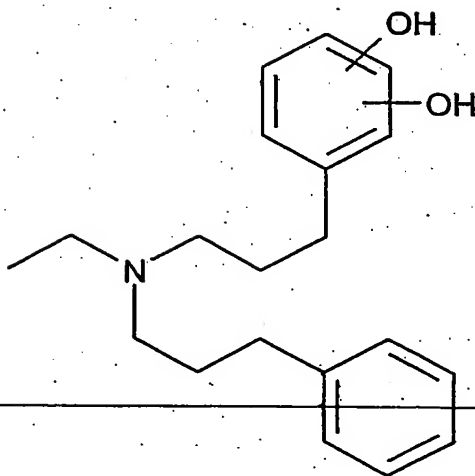
6

Métabolite 1 :



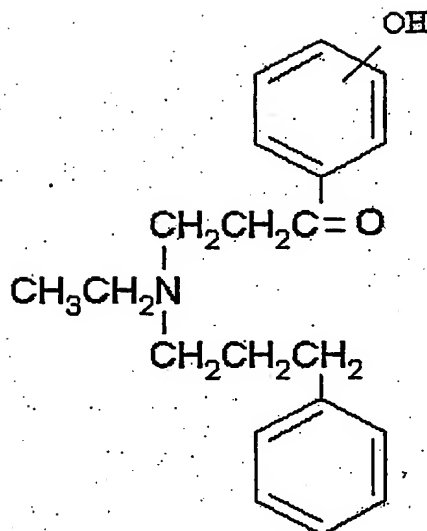
5

Métabolite 2



10

Métabolite 3 :



- 5 Par sels pharmaceutiquement acceptables, on entend les sels d'addition de l'Alvérine qui peuvent s'obtenir par réaction de ce composé avec un acide minéral ou organique suivant une méthode connue en soi. Parmi les acides utilisables à cet effet, on citera les acides chlorhydrique, bromhydrique, sulfurique, phosphorique, 4-toluène sulfonique, méthane sulfonique, cyclohexyl sulfamique, oxalique, succinique, formique,
- 10 fumarique, maléïque, citrique, aspartique, cinnamique, lactique, glutamique, N-acétylaspartique, N-acétylglutamique, ascorbique, malique, benzoïque, nicotinique et acétique, le citrate et le tartatre d'Alvérine ont été largement utilisés dans des préparations pharmaceutiques spasmolytiques.
- Parmi les esters sur la fonction hydroxy on peut citer les esters d'acide carboxylique
- 15 ayant de 1 à 6 atomes de carbones.

Bien que l'Alvérine soit connue pour son activité antispasmodique et soit utilisée pour le traitement des manifestations fonctionnelles abdominales notamment avec météorisme, son action en tant qu'agent antidépresseur n'a jamais été décrite ou

20 suggérée.

L'Alvérine, ses métabolites, ses sels, et notamment le citrate et les esters peuvent être administrés sous une forme pharmaceutiquement acceptable par l'une des différentes voies connues pour ce type de principes actifs.

- 5 De manière préférentielle, l'invention a pour objet l'utilisation de l'Alvérine ou de ses métabolites dans laquelle la composition pharmaceutique est administrée par voie orale, sublinguale, buccale, sous-cutanée, transdermique, locale, rectale, intranasale, ou injectable, en particulier par voie intrapéritonéale, intraveineuse ou intramusculaire.

- 10 De manière préférentielle, l'invention a pour objet l'utilisation de l'Alvérine ou de ses métabolites pour la préparation d'une composition pharmaceutique qui peut être administrée par voie orale, notamment sous forme de gélules ou de comprimés.

- 15 Les substances actives des compositions pharmaceutiques selon l'invention peuvent être dans n'importe laquelle des formes galéniques orales habituelles comprenant des comprimés, des capsules et des préparations liquides telles que des élixirs et des suspensions contenant diverses substances masquantes de coloration, de saveur et de stabilisation.

- 20 Pour réaliser les formes galéniques orales selon l'invention, notamment des gélules, la substance active peut être mélangée à divers matériaux conventionnels tels que l'amidon, le carbonate de calcium, le lactose, le sucrose et le phosphate dicalcique pour faciliter le processus d'encapsulation. Le stéarate de magnésium, comme additif, fournit une fonction utile de lubrifiant si nécessaire.

- 25 Il peut dans certains cas être intéressant de prévoir des formes à libération contrôlée notamment à libération prolongée par des mises en formes galéniques connues.

- 30 De même, l'invention a pour objet l'utilisation de l'Alvérine ou de ses métabolites pour la préparation d'une composition pharmaceutique qui peut être administrée par voie injectable.

Les substances actives des compositions pharmaceutiques selon l'invention peuvent être dissoutes ou mises en suspension dans un liquide injectable stérile

pharmaceutiquement acceptable, tel que l'eau stérile, un solvant organique stérile ou un mélange de ces deux liquides pour une administration par voie intraveineuse.

D'autres voies d'administration peuvent comprendre, mais ne sont pas limitées, aux implants sous-cutanés, aussi bien que les administrations buccales, sublinguales, transdermiques, topiques, intranasales ou rectales. Des systèmes d'administration biodégradables et non-biodégradables peuvent également être employés.

Selon un mode particulier de réalisation, l'invention a pour objet l'utilisation de l'Alvérine ou de ses métabolites sels ou esters pour la préparation d'une composition pharmaceutique administrable selon l'une des voies précédentes dosée de 1 à 1000 mg de principe actif pour une composition formulée sous forme de gélules ou de comprimés ou de 0.1 à 500 mg de principe actif pour une composition formulée sous forme de suppositoires, pommades, crèmes, gels ou des préparations en aérosols, administrée en thérapeutique humaine en une ou plusieurs prises journalières pour un adulte de poids moyen 60 à 70 kg.

Dans le cadre d'une utilisation pour des animaux, la dose journalière utilisable se situe entre 0.01 et 100 mg par kg.

L'Alvérine, ou ses métabolites, sels ou esters peut également être utilisée selon l'objet de la présente invention en combinaison avec un composé antidépresseur tricyclique.

De manière préférentielle, le composé antidépresseur tricyclique est l'imipramine.

L'Alvérine, ou ses métabolites, sels ou esters peut également être utilisée selon l'objet de la présente invention en combinaison avec un composé antidépresseur inhibiteur spécifique de la recapture de la sérotonine.

De manière préférentielle, le composé antidépresseur inhibiteur spécifique de la recapture de la sérotonine est la fluoxétine.

Dans le cadre de la présente invention, il est possible de prévoir l'administration de mélanges des composés précédents mais dans la plupart des cas, compte tenu des demandes des autorités de santé, l'administration se fera sous forme de coprescription.

Les produits pourront être administrés simultanément ou séparément dans le temps pour tenir compte de leurs particularités et notamment de leur biodisponibilité.

Les rapports des doses des différents produits dépendent bien entendu des produits utilisés, mais les essais préliminaires ont montré que les associations 1/1 d'Alvérine et d'antidépresseur permettaient de diviser sensiblement par 3 les doses administrées pour obtenir le même effet antidépresseur.

- 5 On utilisera donc préférentiellement des rapports de principes actifs en poids compris entre 1/4 et 4/1 entre l'Alvérine et l'antidépresseur, ce qui doit permettre de diviser au moins par 2 les doses administrées de chaque composé.

- 10 Les composés selon la présente invention sont administrés de manière simultanée, séparée ou étalée dans le temps.

- 15 Selon un deuxième aspect, la présente invention a également pour objet une composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle est un produit de combinaison comprenant au moins le composé Alvéline ou ses métabolites, sels ou esters et au moins un composé antidépresseur tricyclique pour une utilisation simultanée, séparée ou étalée dans le temps destinée à traiter la dépression.

- 20 Préférentiellement, la composition pharmaceutique selon la présente invention est caractérisée en ce qu'elle comprend des rapports de doses en poids d'Alvérine et d'antidépresseur tricyclique compris entre 1/10 et 10/1. Plus préférentiellement, les rapports de doses en poids sont compris entre 1/4 et 4/1.

De manière préférentielle, le composé antidépresseur tricyclique est l'imipramine.

- 25 D'autres antidépresseurs tricycliques peuvent être utilisés, notamment la clomipramine, l'amitriptyline, la maprotiline, l'amoxapine, la désipramine, la nortriptyline, la démexiptiline, la dibenzépine, la dosulépine, la doxépine, la métapramine, la noxiptiline, l'opipramol, la propizépine, la quinupramine, et la trimipramine.

- 30 Selon un troisième aspect, la présente invention a également pour objet une composition pharmaceutique, caractérisée en ce qu'elle est un produit de combinaison

comprenant au moins le composé Alvéline ou ses métabolites, sels ou esters et au moins un composé antidépresseur inhibiteur spécifique de la recapture de la sérotonine pour une utilisation simultanée, séparée ou étalée dans le temps destinée à traiter la dépression.

5

Préférentiellement, la composition pharmaceutique selon la présente invention est caractérisée en ce qu'elle comprend des rapports de doses en poids d'Alvéline et d'antidépresseur inhibiteur spécifique de la recapture de la sérotonine compris entre 1/10 et 10/1. Plus préférentiellement, les rapports de doses en poids sont compris entre 1/4 et 4/1.

10

De manière préférentielle, le composé antidépresseur inhibiteur spécifique de la recapture de la sérotonine est la fluoxétine.

15

D'autres inhibiteurs de la recapture de la sérotonine peuvent être utilisés, notamment la paroxétine, le citalopram, le fluvoxamine, la sertraline.

20

Par traitement de la dépression, on entend le traitement de l'ensemble des phénomènes de type dépressif, aussi bien le traitement des épisodes dépressifs uniques que les épisodes dépressifs récurrents ou les dépressions majeures, mais également le traitement des épisodes dépressifs des désordres bipolaires ou cyclothymiques et des troubles apparentés.

25

La présente invention se rapporte également à une méthode de traitement de la dépression comprenant l'administration d'une composition selon la présente invention à un patient ayant besoin d'un tel traitement.

Ladite composition comprend de l'Alvéline ou ses métabolites, seul ou en combinaison avec un antidépresseur tricyclique ou un antidépresseur inhibiteur spécifique de la recapture de la sérotonine.

30

Dans le cas d'une combinaison de l'Alvéline et d'un antidépresseur tricyclique ou un antidépresseur inhibiteur spécifique de la recapture de la sérotonine, les rapports de doses en poids sont de 1/10 à 10/1 et préférentiellement de 1/4 à 4/1.

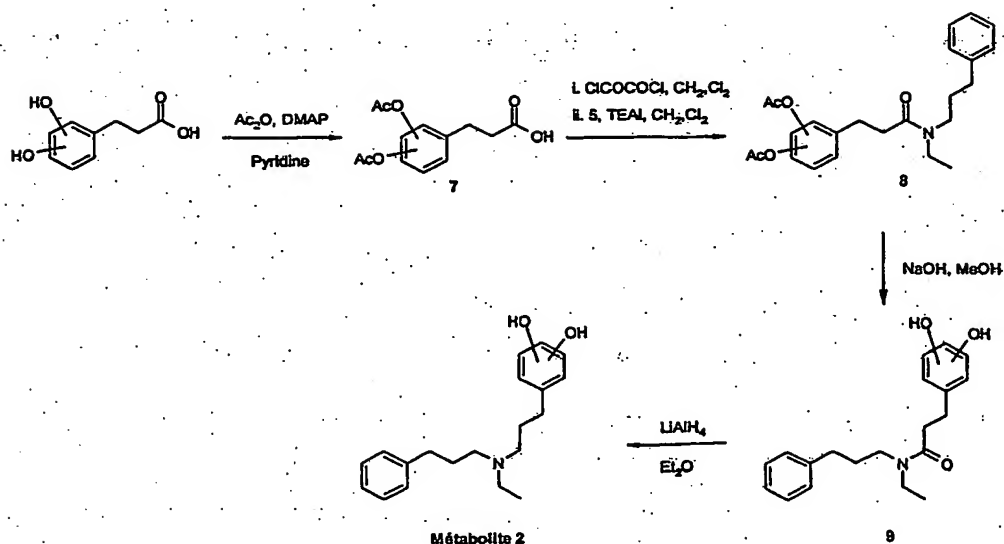
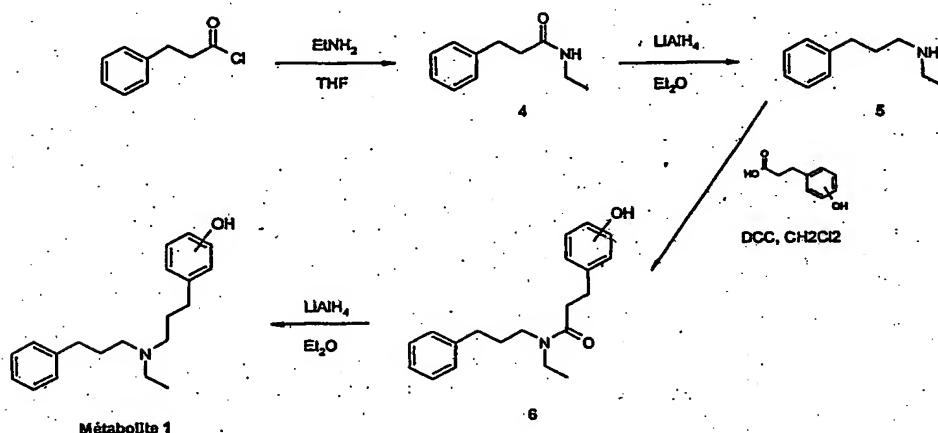
12

Les procédés de préparation de l'Alvérine à partir du phenylpropyl chloride et de l'éthylamine, dans un milieu alcalin sont décrits dans Külz et al., Ber. 72,2165 (1939) et sa galénique est également connue.

5

Les mécanismes de synthèse des métabolites 1, 2 et 3 de l'Alvérine sont illustrés par les schémas 1, 2 et 3. Les protocoles expérimentaux pour la synthèse des métabolites 1 para-OH et ortho-OH sont décrits dans le brevet WO92/02488 de W.J. Horgan et illustrés par le schéma 1. Les schémas 1, 2 et 3 sont présentés ci après :

10



15

13

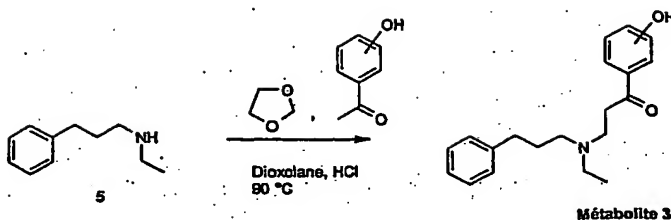


Schéma 3

5 La présente invention sera mieux comprise à l'aide du complément de description qui va suivre, qui se réfère à des exemples de tests d'activité antidépressive de l'Alvérine, seul ou en combinaison avec d'autres antidépresseurs, administrée à des souris selon la présente invention.

10 Il va de soi, toutefois que ces exemples ne sont donnés qu'à titre d'illustration de l'objet de l'invention, dont ils ne sauraient constituer en aucune manière une limitation.

LEGENDE DES FIGURES

15 Figure 1 : Histogramme de présentation des résultats obtenus par un test d'activité antidépressive de l'Alvérine administrée par voie intrapéritonéale sur un lot de souris, présenté dans le tableau 1 et décrit en exemple 1.

20 Figure 2 : Histogramme de présentation des résultats obtenus par un test d'activité antidépressive de l'Alvérine administrée par voie orale sur un lot de souris, présenté dans le tableau 2 et décrit en exemple 2.

25 Figure 3 : Histogramme de présentation des résultats obtenus par un test d'activité antidépressive de l'Alvérine et de l'imipramine administrée par voie intrapéritonéale sur un lot de souris, présenté dans le tableau 3 et décrit en exemple 3.

Figure 4 : Histogramme de présentation des résultats obtenus par un test d'activité antidépressive de l'Alvérine et de la fluoxétine administrée par voie intrapéritonéale sur un lot de souris, présenté dans le tableau 4 et décrit en exemple 3.

EXEMPLES

Les exemples donnés ci-après illustrent l'invention sans toutefois la limiter :

5

Exemple 1 : Test d'activité antidépressive de l'Alvérine administrée par voie intrapéritonéale sur un lot de souris.

10 Pour établir les avantages selon l'invention une étude a été effectuée sur un lot de 50 souris. Elles ont été divisées en 5 groupes de 10 souris chacun. Il s'agit de souris Suisses CD1 (CD-1® (ICR) IGS (Charles River France) pesant entre 25 et 35 g.

Elles ont été placées dans une pièce à une température comprise entre 19.5 et 24.5 °C et une humidité relative de 45 à 65 % avec un cycle lumière/obscurité de 12h, un accès *ad libitum* à de l'eau filtrée et des boulettes de nourriture de laboratoire standard.

15 Elles sont placées 15 à 20 par cage, pendant une période d'acclimatation d'au moins 5 jours avant les tests. Elles sont identifiées par marquage sur la fourrure.

La substance à tester est l'Alvérine citrate (Sigma, sous forme de poudre sèche, avec un ratio sel/base de 1.68) comparativement au chlorhydrate d'imipramine (Sigma, sous
20 forme de poudre sèche, avec un ratio sel/base de 1.13).

Le premier groupe est le groupe témoin : il n'est traité que par de l'excipient.

Le deuxième groupe est traité avec de l'Alvérine à une dose de 3 mg/kg

Le troisième groupe est traité avec de l'Alvérine à une dose de 10 mg/kg

25 Le quatrième groupe est traité avec de l'Alvérine à une dose de 30 mg/kg

Le cinquième groupe est traité avec de l'imipramine (antidépresseur tricyclique) à une dose de 10 mg/kg

Les doses sont exprimées en termes de substances actives libres. Les substances sont préparées extemporanément dans l'excipient. Les traitements sont administrés trente
30 minutes avant le test dans un ordre codé et aléatoire par voie intrapéritonéale avec un volume de 10ml/kg.

Trente minutes après administration, les cinq groupes de souris sont soumis au test de la nage forcée, dans un cylindre vertical en plexiglas (hauteur : 24 cm, diamètre 9 cm) contenant de l'eau (hauteur 6 cm, température : 18-22 °C). La durée totale d'immobilité est mesurée pendant les quatre dernières minutes du test, durant au total
5 six minutes. Une souris est jugée immobile lorsqu'elle cesse de lutter et flotte dans l'eau sans mouvements superflus à ceux lui permettant de maintenir la tête hors de l'eau. Une réduction du temps d'immobilité est le reflet d'un effet antidépresseur.

10 Le test de la nage forcée est un modèle comportemental pré-clinique qui possède une bonne validité prédictive et est largement utilisé pour déterminer l'efficacité des médicaments antidépresseurs (Borsini and Meli, 1988).

15 Les résultats sont exprimés en durée totale d'immobilité en secondes et en pourcentage de variation de la durée totale d'immobilité calculée à partir de la valeur moyenne du groupe témoin.

La signification statistique entre les groupes traités et le groupe témoin est déterminé avec un test de Dunnett utilisant la variance résiduelle après une analyse de la variance ($P < 0.05$). Les données sont analysées en utilisant un logiciel « SigmaStat ».

20 Les résultats obtenus sont présentés sous forme de tableau ci-après, et sous forme d'histogramme, en figure 1.

Tableau 1 : résultats obtenus par un test d'activité antidépressive de l'Alvérine administrée par voie intrapéritonéale sur un lot de souris.

Substances Doses mg/kg	Excipient (1% methylcellulose)	Citrate d'Alvérine 3mg/kg	Citrate d'Alvérine 10mg/kg	Citrate d'Alvérine 30mg/kg	Imipramine 10mg/kg
temps d'immobilité (sec)	97	118	3	12	65
	107	128	29	97	67
	144	82	86	3	70
	171	151	28	66	1
	144	132	30	36	89
	136	127	90	0	3
	79	88	99	15	9
	128	85	65	7	38
	132	99	129	16	99
	160	93	57	7	53
Moyenne	129.8	110.3	61.6	25.9	49.4
Erreur type à la moyenne	9.0	7.6	12.5	10.0	11.2
Test de Dunnett	P<0.05	ns	*	*	*
% de variation		-15	-53	-80	-62

L'administration se fait 30 minutes avant le test.

n= 10 animaux par groupe

* indique une différence significative pour $p < 0.05$ (test de Dunnett)

ns indique un résultat non significatif

On observe que plus la dose d'Alvérine administrée est importante, plus le temps d'immobilité des souris diminue, indiquant un effet antidépresseur proportionnel avec la dose (figure 1).

En outre, on observe que les souris du troisième groupe traitées à 10 mg/kg d'Alvérine présentent un temps d'immobilité comparable à celui des souris du cinquième groupe traitées à 10 mg/kg d'Imipramine.

On peut donc en conclure que l'Alvérine, injectée par voie intrapéritonéale possède un effet antidépresseur significatif chez la souris et aussi important que l'Imipramine, à des doses comparables.

Exemple 2 : Test d'activité antidépressive de l'Alvérine administrée par voie orale sur un lot de souris.

- 5 Pour établir les avantages selon l'invention une étude a été effectuée sur un lot de 50 souris. Elles ont été divisées en 5 groupes de 10 souris chacun. Il s'agit de souris Suisses CD1 (CD-1® (ICR) IGS (Charles River France) pesant entre 25 et 35 g. Elles ont été placées dans une pièce à une température comprise entre 19.5 et 24.5 °C et une humidité relative de 45 à 65 % avec un cycle lumière/obscurité de 12h, un accès
- 10 *ad libitum* à de l'eau filtrée et des boulettes de nourriture de laboratoire standard. Elles sont placées 15 à 20 par cage, pendant une période d'acclimatation d'au moins 5 jours avant les tests. Elles sont identifiées par marquage sur la fourrure.

- La substance à tester est l'Alvérine citrate (Sigma, sous forme de poudre sèche, avec
- 15 un ratio sel/base de 1.68), comparativement au chlorhydrate d'imipramine (Sigma, sous forme de poudre sèche, avec un ratio sel/base de 1.13).

- Le premier groupe est le groupe témoin : il n'est traité que par l'excipient.
- Le deuxième groupe est traité avec de l'Alvérine à une dose de 10 mg/kg
- 20 Le troisième groupe est traité avec de l'Alvérine à une dose de 30 mg/kg
- Le quatrième groupe est traité avec de l'Alvérine à une dose de 100 mg/kg
- Le cinquième groupe est traité avec de l'imipramine (antidépresseur tricyclique) à une dose de 30 mg/kg
- Les doses sont exprimées en termes de substances actives libres. Les substances sont
- 25 préparées extemporanément dans l'excipient. Les traitements sont administrés une heure avant le test dans un ordre codé et aléatoire par voie orale avec un volume de 10ml/kg.

- Une heure après administration, les cinq groupes de souris sont soumis au test de la
- 30 nage forcée, dans un cylindre vertical en plexiglas (hauteur : 24 cm, diamètre 9 cm) contenant de l'eau (hauteur 6 cm, température : 18-22 °C). La durée totale d'immobilité est mesurée pendant les quatre dernières minutes du test, durant au total

six minutes. Une souris est jugée immobile lorsqu'elle cesse de lutter et flotte dans l'eau sans mouvements superflus à ceux lui permettant de maintenir la tête hors de l'eau. Une réduction du temps d'immobilité est le reflet d'un effet antidépresseur.

- 5 Le test de la nage forcée est un modèle comportemental pré-clinique qui possède une bonne validité prédictive et est largement utilisé pour déterminer l'efficacité des médicaments antidépresseurs (Borsini and Meli, 1988).

10 Les résultats sont exprimés en durée totale d'immobilité en secondes et en pourcentage de variation de la durée totale d'immobilité calculée à partir de la valeur moyenne du groupe témoin.

La signification statistique entre les groupes traités et le groupe témoin est déterminé avec un test de Dunnett utilisant la variance résiduelle après une analyse de la variance ($P < 0.05$). Les données sont analysées en utilisant un logiciel « SigmaStat ».

- 15 Les résultats obtenus sont présentés sous forme de tableau ci-après, et sous forme d'histogramme, en figure 2.

Tableau 2 : résultats obtenus par un test d'activité antidépressive de l'Alvérine administrée par voie orale sur un lot de souris:

Substances Doses mg/kg	Excipient (solution saline)	Citrate d'Alvérine 10 mg/kg	Citrate d'Alvérine 30mg/kg	Citrate d'Alvérine 100mg/kg	Imipramine 30mg/kg
temps d'immobilité (sec)	167	113	113	32	97
	128	86	104	52	52
	123	95	80	129	64
	126	104	64	67	55
	139	111	70	6	5
	159	126	105	105	75
	163	108	105	75	67
	147	78	105	81	70
	149	115	41	5	89
	179	106	63	37	45
Moyenne	148.0	104.2	85.0	58.9	61.9
Erreur type à la moyenne	6.0	4.5	7.8	12.8	8.1
Test de Dunnett	P<0.05	ns	*	*	*
% de variation		-30	-43	-60	-58

5

L'administration se fait 60 minutes avant le test.

n= 10 animaux par groupe

* indique une différence significative pour $p < 0.05$ (test de Dunnett)

10

ns indique un résultat non significatif

15

On observe que plus la dose d'Alvérine administrée est importante, plus le temps d'immobilité des souris diminue, indiquant un effet antidépresseur proportionnel avec la dose (figure 2).

De plus, on observe que les souris du cinquième groupe traitées à 30 mg/kg d'Imipramine présentent un temps d'immobilité inférieur à celui des souris du troisième groupe traitées à 30 mg/kg d'Alvérine mais comparable aux souris du quatrième groupe traitées à 100 mg/kg d'Alvérine.

20

En outre, aucun effet secondaire n'a été observé chez les souris traitées à l'Alvérine par voie orale, aux doses utilisées.

On peut donc en conclure que l'Alvérine, administré par voie orale possède un effet antidépresseur significatif chez la souris, bien que cet effet ne soit comparable à celui de l'imipramine qu'à des doses supérieures, mais ceci sans engendrer d'effets secondaires.

5

Exemple 3 Test d'activité antidépressive de l'Alvérine associée à l'imipramine ou à la fluoxétine administrée par voie intrapéritonéale sur un lot de souris.

10 Pour établir les avantages d'une composition comprenant l'Alvérine et l'imipramine ou l'Alvérine et la fluoxétine, une étude a été effectuée sur un lot de 120 souris. Il s'agit de souris Suisses CD1 (CD-1® (ICR) IGS (Charles River France) pesant entre 25 et 35 g

Elles ont été placées dans une pièce à une température comprise entre 19.5 et 24.5 °C et une humidité relative de 45 à 65 % avec un cycle lumière/obscurité de 12h, un accès 15 *ad libitum* à de l'eau filtrée et des boulettes de nourriture de laboratoire standard. Elles sont placées à 15 à 20 par cage, pendant une période d'acclimatation d'au moins 5 jours avant les tests. Elles sont identifiées par marquage sur la fourrure.

20 Les substances à tester sont l'Alvérine citrate (Sigma, sous forme de poudre sèche, avec un ratio sel/base de 1.68), le chlorhydrate d'imipramine (Sigma, sous forme de poudre sèche, avec un ratio sel/base de 1.13), et le chlorhydrate de fluoxétine (Sigma, sous forme de poudre sèche, avec un ratio sel/base de 1.12).

Les souris ont été divisées en deux essais comprenant six groupes de 10 Souris :
25 Pour le premier essai :

Le premier groupe est le groupe témoin : il n'est traité que par l'excipient.

Le deuxième groupe est traité avec de l'imipramine à une dose de 3 mg/kg

Le troisième groupe est traité avec de l'Alvérine à une dose de 3 mg/kg

30 Le quatrième groupe est traité avec de l'Alvérine à une dose de 3 mg/kg et de l'imipramine à une dose de 3 mg/kg

Le cinquième groupe est traité avec de l'imipramine à une dose de 10 mg/kg

Le sixième groupe est traité avec de l'Alvérine à 10 mg/kg

Pour le deuxième essai :

Le premier groupe est le groupe témoin : il n'est traité que par l'excipient.

Le deuxième groupe est traité avec de la fluoxétine à une dose de 3 mg/kg

Le troisième groupe est traité avec de l'Alvérine à une dose de 3 mg/kg

- 5 Le quatrième groupe est traité avec de l'Alvérine à une dose de 3 mg/kg et de la fluoxétine à une dose de 3 mg/kg

Le cinquième groupe est traité avec de la fluoxétine à une dose de 10 mg/kg

Le sixième groupe est traité avec de l'Alvérine à 10 mg/kg

- 10 Les doses sont exprimées en termes de substances actives libres. Les substances tests sont préparées extemporanément dans une solution saline. Les traitements sont co-administrés trente minutes avant le test dans un ordre codé et aléatoire par voie intrapéritonéale avec un volume de 10ml/kg (5ml/kg pour chaque administration).

- 15 Trente minutes après administration, les six groupes de souris sont soumis au test de la nage forcée, dans un cylindre vertical en plexiglas (hauteur : 24 cm, diamètre 9 cm) contenant de l'eau (hauteur 6 cm, température : 18-22 °C). La durée totale d'immobilité est mesurée pendant les quatre dernières minutes du test, durant au total six minutes. Une souris est jugée immobile lorsqu'elle cesse de lutter et flotte dans
- 20 l'eau sans mouvements superflus à ceux lui permettant de maintenir la tête hors de l'eau. Une réduction du temps d'immobilité est le reflet d'un effet antidépresseur.

- Le test de la nage forcée est un modèle comportemental pré-clinique qui possède une bonne validité prédictive et est largement utilisé pour déterminer l'efficacité des
- 25 médicaments antidépresseurs (Borsini and Meli, 1988).

Les résultats sont exprimés en durée totale d'immobilité en secondes et en pourcentage de variation de la durée totale d'immobilité calculée à partir de la valeur moyenne du groupe témoin.

- 30 La signification statistique entre les groupes traités et le groupe témoin est déterminée avec un test de Dunnett utilisant la variance résiduelle après une analyse de la variance ($P < 0.05$). La signification statistique entre deux groupes traités est déterminée en

utilisant un test de Student ($P < 0.05$). Les données sont analysées en utilisant un logiciel « SigmaStat ».

Les résultats obtenus sont présentés sous forme de tableaux ci-après, et sous forme d'histogramme, en figure 3 et 4.

5

Tableau 3 : résultats obtenus par un test d'activité antidépressive de l'Alvérine et de l'imipramine administrées par voie intrapéritonéale sur un lot de souris.

Substances	Excipient	Imipramine 3 mg/kg	Alvérine 3mg/kg	Alvérine 3mg/kg + imipramine 3mg/kg	Imipramine 10 mg/kg	Alvérine 10mg/kg
Doses mg/kg						
temps d'immobilité (sec)	125	123	140	77	4	57
	94	121	108	21	0	28
	163	121	134	32	62	10
	143	70	113	68	38	1
	147	74	65	86	54	74
	130	122	85	37	45	22
	169	93	73	66	92	70
	156	94	79	88	26	69
	147	141	125	5	77	67
	169	133	95	0	80	42
Moyenne	144.3	109.2	101.7	48.0	47.8	44.0
Erreur type à la moyenne	7.3	7.8	8.3	10.5	9.9	8.6
Test de Dunnett	$P < 0.05$	ns	ns	*	*	*
% de variation		-24	-30	-67	-67	-70

- 10 Les composés à tester ou le véhicule sont co-administrés par voie intrapéritonéale 30 minutes avant le test (10 ml/kg)

Véhicule: sérum physiologique

n = 10 animaux par groupe

* indique une différence significative pour $P < 0.05$ (test de Dunnett)

- 15 ns indique un résultat non significatif

dans la figure 3 indique une différence significative pour $P < 0.05$ (test de Student)

Tableau 4 : résultats obtenus par un test d'activité antidépressive de l'Alvérine et de la fluoxétine administrées par voie intrapéritonéale sur un lot de souris.

Substances Doses mg/kg	Excipient	Fluoxétine 3 mg/kg	Alvérine 3mg/kg	Alvérine 3mg/kg + fluoxétine 3mg/kg	fluoxétine 10 mg/kg	Alvérine 10mg/kg
temps d'immobilit é (sec)	197	125	32	133	122	75
	172	149	119	8	76	63
	130	127	138	82	83	75
	115	18	117	90	76	77
	175	101	110	2	105	46
	160	99	73	32	90	6
	151	10	117	34	28	113
	143	100	47	3	88	89
	171	103	124	106	34	104
	100	134	72	32	125	125
Moyenne	151.4	105.6	94.9	52.2	82.7	77.3
Erreur type	9.4	11.2	11.4	14.8	10.2	10.9
Test de Dunnett	P<0.05	*	*	*	*	*
% de variation		-30	-37	-66	-45	-49

5

Les composés à tester ou le véhicule sont co-administrés par voie intrapéritonéale 30 minutes avant le test (10 ml/kg)

Véhicule: sérum physiologique

n = 10 animaux par groupe

10 * indique une différence significative pour P<0.05 (test de Dunnett)

ns indique un résultat non significatif

dans la figure 4 indique une différence significative pour P<0.05 (test de Student)

15 Dans l'essai n°1 (tableau 3, Figure 3), l'imipramine et l'Alvérine testés seuls à 3mg/kg produisent une diminution, non significative statistiquement, dans la durée d'immobilisation comparée au groupe témoin.

La co-administration de l'Alvérine et de l'imipramine à 3mg/kg induit un effet antidépresseur significatif en comparaison au groupe témoin. Cet effet est supérieur de

manière significative à l'effet produit par chacun des composé seul et est comparable à ce qui est obtenu avec des doses très supérieures de chaque composé (10 mg/kg).

5 Dans l'essai n°2 (tableau 4, Figure 4), la fluoxétine et l'Alvérine testés seuls à 3mg/kg produisent un effet antidépresseur statistiquement significatif.

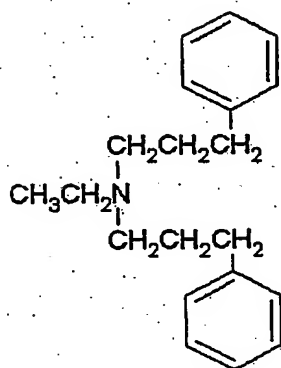
La co-administration de l'Alvérine et de l'imipramine à 3mg/kg induit un effet antidépresseur significativement supérieur à l'effet produit par chaque composé seul. L'effet de la combinaison est supérieur, bien que de façon non significative statistiquement, à l'effet obtenu avec des doses élevées de chaque composé (10
10 mg/kg).

On peut donc en conclure que la co-administration de l'Alvérine citrate avec l'imipramine ou la fluoxétine produit un effet antidépresseur synergique dans le test de la nage forcée chez la souris.

15 Dans les deux associations proposées, les doses de chaque produit mis en œuvre permet avec des résultats voisins de diminuer très fortement les doses administrées et ainsi de réduire le ou les effets secondaires des composés utilisés.

REVENDICATIONS

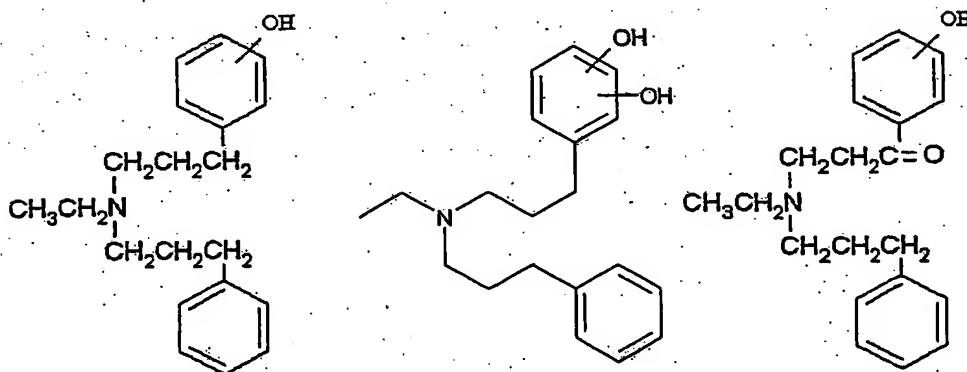
5 1. Utilisation de l'Alvérine



10

ou de ses métabolites, leurs sels et leurs esters, pour la préparation de compositions pharmaceutiques destinées à traiter la dépression.

2. Utilisation, selon la revendication 1, caractérisée en ce que les métabolites de l'Alvérine sont préférentiellement :



15

3. Utilisation selon l'une quelconque des revendications 1 et 2, dans laquelle la composition pharmaceutique est administrée par voie orale, sublinguale, buccale, sous-cutanée, transdermique, locale, rectale, intranasale, ou injectable, en particulier par voie intrapéritonéale, intraveineuse ou intramusculaire.

20

4. Utilisation selon la revendication 3, selon laquelle la composition pharmaceutique est dosée de 0.1 à 1000 mg d'Alvérine.
5. Utilisation selon l'une des revendications 3 à 4, selon laquelle la composition pharmaceutique est administrée en thérapeutique humaine en une ou plusieurs prises journalières pour un adulte de poids moyen 60 à 70 kg.
6. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 5 en combinaison avec un composé antidépresseur tricyclique.
7. Utilisation selon la revendication 6 caractérisée en ce que le composé antidépresseur tricyclique est l'imipramine.
8. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 5 en combinaison avec un composé antidépresseur inhibiteur spécifique de la recapture de la sérotonine.
9. Utilisation selon la revendication 8 caractérisée en ce que le composé antidépresseur inhibiteur spécifique de la recapture de la sérotonine est la fluoxétine.
10. Utilisation selon l'une des revendications 6 à 9 caractérisée en ce que les composés sont administrés de manière simultanée, séparée ou étalée dans le temps.
11. Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un composé selon l'une des revendications 1 à 2 ou ses sels ou esters et au moins un composé antidépresseur tricyclique pour une utilisation simultanée, séparée ou étalée dans le temps destinée à traiter la dépression.
12. Composition pharmaceutique selon la revendication 11 caractérisée en ce qu'elle comprend préférentiellement des rapports de doses en poids d'Alvérine et d'antidépresseur tricyclique compris entre 1/10 et 10/1.
13. Composition pharmaceutique selon la revendication 11 caractérisée en ce qu'elle comprend préférentiellement des rapports de doses en poids d'Alvérine et d'antidépresseur tricyclique compris entre 1/4 et 4/1.
14. Composition selon l'une des revendications 11 à 13 caractérisée en ce que le composé antidépresseur tricyclique est l'imipramine.
15. Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle comprend au moins un composé selon l'une des revendications 1 à 2 ou ses sels ou esters et au moins un composé antidépresseur inhibiteur spécifique de la recapture de la

sérotonine pour une utilisation simultanée, séparée ou étalée dans le temps destinée à traiter la dépression.

- 5 16. Composition pharmaceutique selon la revendication 15 caractérisée en ce qu'elle comprend préférentiellement des rapports de doses en poids d'Alvérine et d'antidépresseur inhibiteur spécifique de la recapture de la sérotonine compris entre 1/10 et 10/1
- 10 17. Composition pharmaceutique selon la revendication 15 caractérisée en ce qu'elle comprend préférentiellement des rapports de doses en poids d'Alvérine et d'antidépresseur inhibiteur spécifique de la recapture de la sérotonine compris entre 1/4 et 4/1
18. Composition selon l'une des revendications 15 à 17 caractérisée en ce que le composé antidépresseur inhibiteur spécifique de la recapture de la sérotonine est la fluoxétine.

1/4

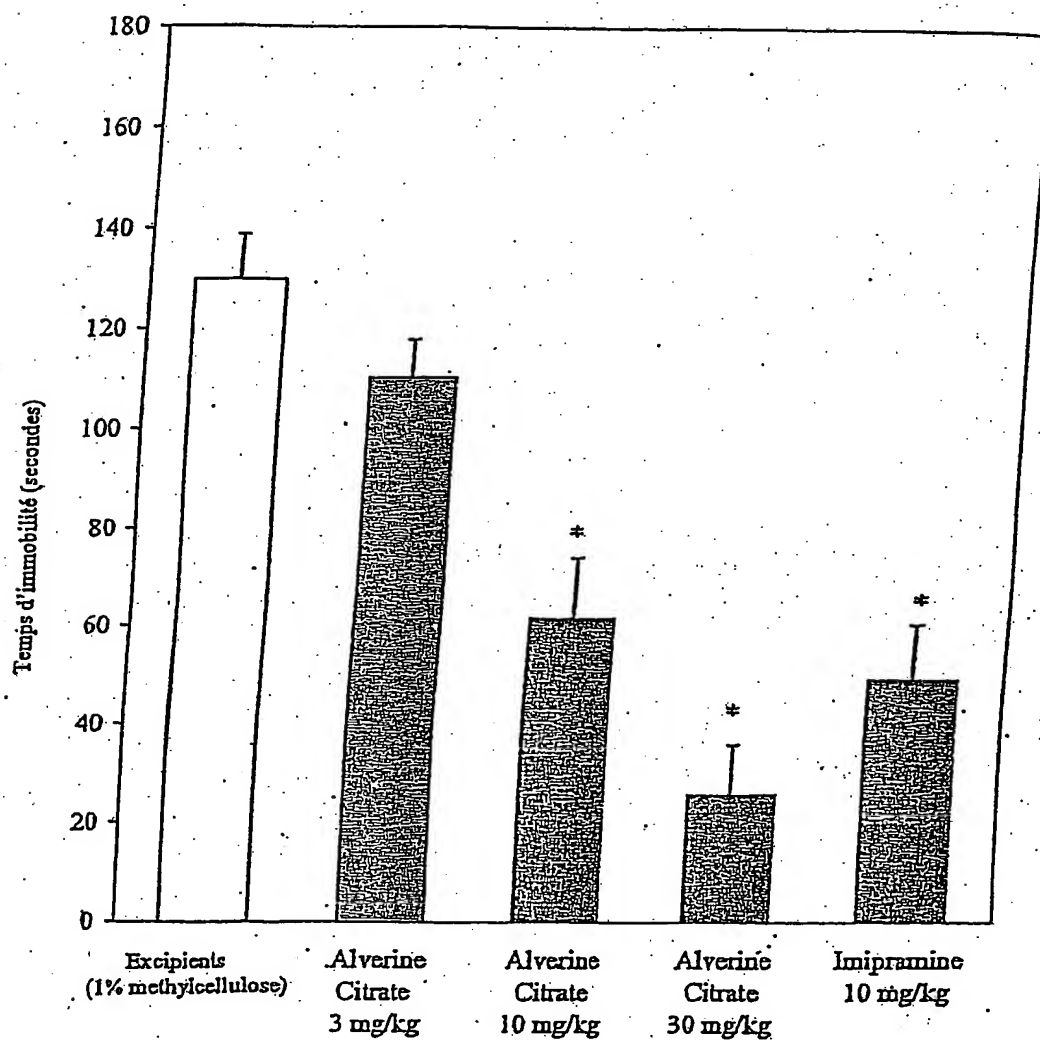


Figure 1

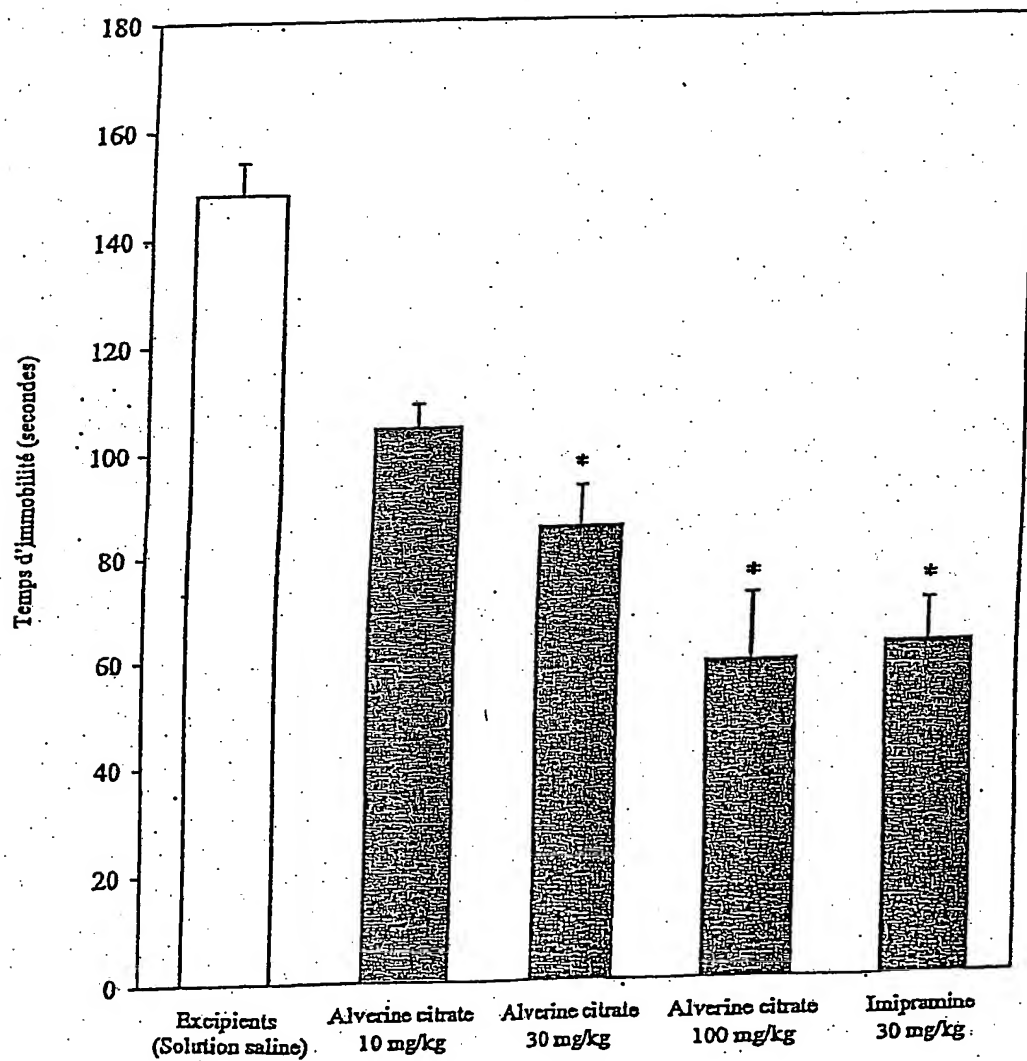


Figure 2

3/4

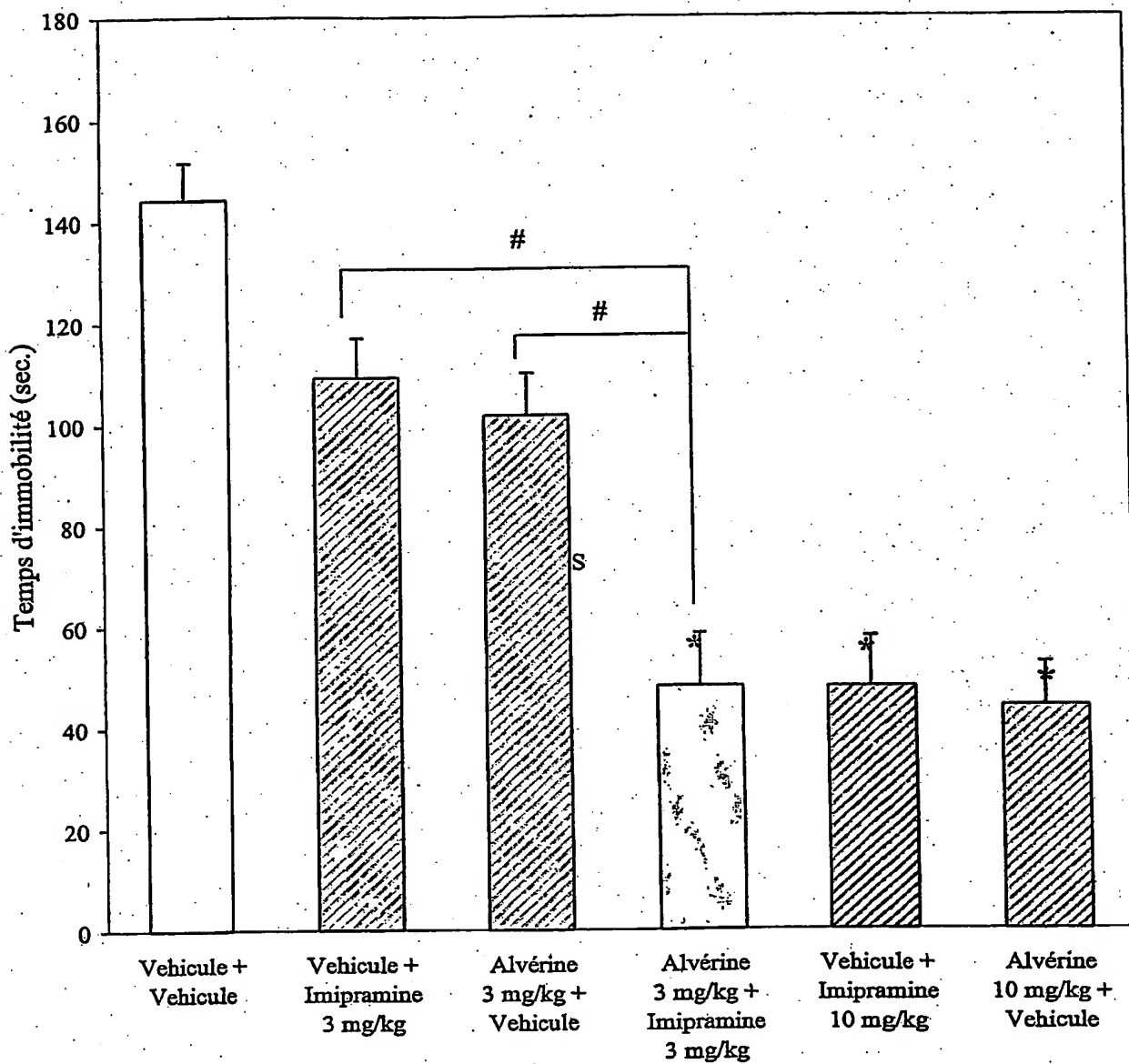


Figure 3

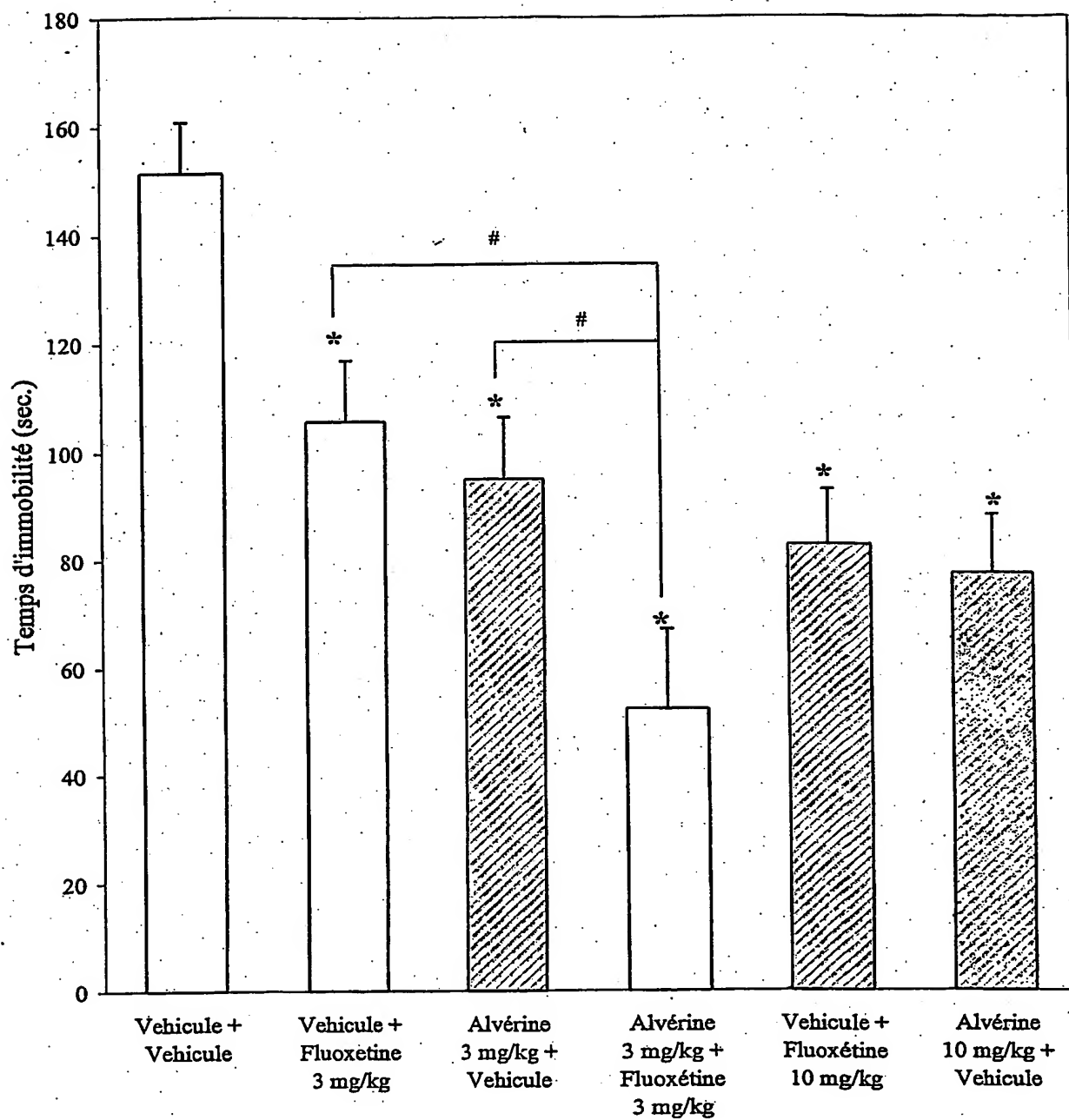


Figure 4

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No

PCT/FR2004/001462

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE

CIB 7 A61K31/137 A61K31/55 A61K31/138 A61P25/24

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 A61K A61P

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, BIOSIS, CHEM ABS Data, SCISEARCH, EMBASE, PAJ, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	COELHO ANNE-MARIE ET AL: "Rectal antinociceptive properties of alverine citrate are linked to antagonism at the 5-HT1A receptor subtype" JOURNAL OF PHARMACY AND PHARMACOLOGY, vol. 53, no. 10, octobre 2001 (2001-10), pages 1419-1426, XP0009025660 & ISSN: 0022-3573 tableau 2	1-18
Y	US 6 239 126 B1 (ZHANG GAN ET AL) 29 mai 2001 (2001-05-29) colonne 1, ligne 22-34; revendication 12	1-18
Y	GB 2 272 155 A (WYETH JOHN & BROTHER LTD) 11 mai 1994 (1994-05-11) page 5, lignes 1-7	1-18
	-/-	

☒ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- *A* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- *E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- *L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- *O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- *P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- *T* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- *X* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- *Y* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- *S* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

23 novembre 2004

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

02/12/2004

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Borst, M

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No

PCT/FR2004/001462

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
Y	WO 92/02488 A (NORGINE LTD) 20 février 1992 (1992-02-20) cité dans la demande revendications 1-17	1-18
A	FR 2 798 590 A (OREAL) 23 mars 2001 (2001-03-23) * rev. 1-9 *	1-6

• RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale No

PCT/FR2004/001462

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US 6239126	B1	29-05-2001	AUCUN	
GB 2272155	A	11-05-1994	AT 195422 T	15-09-2000
			AU 682155 B2	25-09-1997
			AU 5342194 A	24-05-1994
			CA 2148593 A1	11-05-1994
			DE 69329252 D1	21-09-2000
			DE 69329252 T2	29-03-2001
			DK 877612 T3	09-10-2000
			EP 0877612 A1	18-11-1998
			ES 2149216 T3	01-11-2000
			WO 9409780 A1	11-05-1994
			GR 3034400 T3	29-12-2000
			HU 72049 A2	28-03-1996
			JP 3238153 B2	10-12-2001
			JP 8502743 T	26-03-1996
			LV 12734 A , B	20-10-2001
			MX 9306879 A1	31-01-1995
			PT 877612 T	30-11-2000
			US 5827847 A	27-10-1998
			ZA 9307827 A	21-04-1995
WO 9202488	A	20-02-1992	AT 122333 T	15-05-1995
			AU 641799 B2	30-09-1993
			AU 8327291 A	02-03-1992
			BR 9106733 A	31-08-1993
			CA 2088985 A1	09-02-1992
			CZ 281461 B6	16-10-1996
			CZ 9300094 A3	12-05-1993
			DE 69109682 D1	14-06-1995
			DE 69109682 T2	14-09-1995
			DK 542837 T3	11-09-1995
			EP 0542837 A1	26-05-1993
			ES 2072616 T3	16-07-1995
			WO 9202488 A1	20-02-1992
			GB 2246778 A , B	12-02-1992
			GR 91100343 A , B	31-08-1992
			HU 66944 A2	30-01-1995
			IE 912795 A1	12-02-1992
			JP 2766728 B2	18-06-1998
			JP 6500094 T	06-01-1994
			KR 174525 B1	01-04-1999
			MX 9100593 A2	01-04-1992
			PL 167155 B1	31-08-1995
			PT 98599 A , B	30-06-1992
			SK 6693 A3	07-07-1993
			ZA 9106242 A	27-05-1992
FR 2798590	A	23-03-2001	FR 2798590 A1	23-03-2001
			CA 2319842 A1	21-03-2001
			EP 1088548 A2	04-04-2001
			JP 3549823 B2	04-08-2004
			JP 2001114676 A	24-04-2001
			US 6335368 B1	01-01-2002

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☒ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.